

除草剤グリホサート耐性ワタ

(*cp4 epsps*、*Gossypium hirsutum* L.) (MON88913)申請書等の概要

第一種使用規程承認申請書	1
生物多様性影響評価書の概要	
第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報	
1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報	
(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況	3
(2) 使用等の歴史及び現状	3
(3) 生理学的及び生態学的特性	3
2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報	
(1) 供与核酸に関する情報	4
(2) ベクターに関する情報	8
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法	8
(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性	8
(5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性	8
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違	9
3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報	
(1) 使用等の内容	10
(2) 使用等の方法	11
(3) 生物多様性影響が生じるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置	11
(4) 実験室等での使用又は第一種使用等が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果	12
(5) 国外における使用等により得られた情報	12
第二 項目ごとの生物多様性影響の評価	
1 競合における優位性	12
2 有害物質の産生性	13
3 交雑性	14
第三 生物多様性影響の総合的評価	14
緊急措置計画書	16

第一種使用規程承認申請書

平成 16 年 2 月 9 日

農林水産大臣 亀井善之殿
環境大臣 小池百合子殿

氏名 日本モンサント株式会社
申請者 代表取締役社長 山根精一郎 印
住所 東京都中央区銀座 4-10-10
銀座山王ビル 8 階

第一種使用規程について承認を受けたいので、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律第 4 条第 2 項(同法第 9 条第 4 項において準用する場合を含む。)の規定により、次のとおり申請します。

遺伝子組換え生物等の種類の名称	除草剤グリホサート耐性ワタ (<i>cp4 epsps</i> 、 <i>Gossypium hirsutum</i> L.) (MON88913)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	隔離ほ場における栽培、保管、運搬、廃棄及びこれらに付随する行為
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	<p>所在地：茨城県稲敷郡河内町生板 4717 名称：日本モンサント隔離ほ場 使用期間：平成 16 年 5 月から平成 16 年 12 月まで</p> <p>1 隔離ほ場の施設</p> <p>(1)7836 m²の隔離ほ場の外周を囲むように約 1.5m のフェンスを設置している。</p> <p>(2)隔離ほ場であること、部外者は立入禁止であること明示した標識を掲げている。尚、責任者の名前は 4 月までに明示する。</p> <p>(3)隔離ほ場で使用した機械又は器具、隔離ほ場で作業に従事した者の靴等に付着した遺伝子組換え農作物を洗浄するための洗い場、隔離ほ場で使用した靴等を保管する靴箱等を設置している。</p> <p>(4)3196 m²の隔離畑を囲むように防風網を設置している。また、本組換えワタの開花期間中は防虫網を張って栽培する。</p> <p>2 隔離ほ場の作業要領</p> <p>(1) 遺伝子組換え農作物及び比較対照の農作物以外の植物</p>

	<p>が認められた場合は、ただちに除草剤処理、鋤き込み或いは抜き取って焼却炉で焼却することにより不活化させる。</p> <p>(2) 遺伝子組換え農作物の栽培が終了した後、当該遺伝子組換え農作物を隔離ほ場内に鋤き込むか、抜き取って焼却炉で焼却することにより不活化する。</p> <p>(3) 遺伝子組換え農作物を隔離ほ場の外に運搬し又は保管する場合は、密閉された容器に遺伝子組換え農作物を入れる。</p> <p>(4) 隔離ほ場で使用した機械又は器具、隔離ほ場で作業に従事した者の靴等は、隔離ほ場内に設置した洗い場で洗浄する。</p> <p>(5) 隔離ほ場内の設備については随時点検、整備する。</p> <p>(6) 隔離ほ場内で栽培した遺伝子組換え農作物以外の植物であって当該遺伝子組換え農作物との区別が付きにくいものは、ただちに除草剤処理、鋤き込み或いは抜き取って焼却炉で焼却することにより不活化させる。</p> <p>(7) (1)から(6)に掲げる事項を使用等をするものに遵守させること。</p> <p>(8) 生物多様性影響のおそれがあると認められたときに添付書類の緊急措置計画書に定められた生物多様性影響を効果的に防止するための措置を確実に講ずること。</p>
--	---

生物多様性影響評価書の概要

第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

宿主はアオイ科ワタ属に属する四倍体栽培ワタ(*Gossypium hirsutum*)の品種Coker312である。*G. hirsutum*の自生個体が群生していることは稀で、多くの場合海岸沿いないしは小島に分散して生育している。尚、わが国において*G. hirsutum*を含め本組換えワタと交雑が可能な*Gossypium*属植物の自然分布は報告されていない。

(2) 使用等の歴史及び現状

ワタの日本への伝来は、799年にインド人によってもたらされたのが最初であるとされているが、このワタはすぐに消滅したようである。その後、文禄年間(1592~1595)にワタの種子が九州に再び伝えられ、ワタ作は関東以南に広がり、明治15~20年頃には10万ha、2万4千トンの生産をみるにいたったが、その後、外綿の輸入に押されてしだいに衰微した。現在では、ワタの日本国内における商業栽培はほとんどない。尚、日本で古くから栽培されているのはアジア綿の*G. arboreum*と考えられている。

また、2002年におけるわが国における綿実の輸入量は約15万トンであり、その内の96%がオーストラリアから輸入された(日本貿易月表、平成14年12月号)。更に輸入された綿実の内、約4万トンが搾油用として用いられ、残りは牛の飼料用として用いられた。

綿実1tから約130kgの綿実油が得られ、食用油のほかマーガリンや石鹼の原料などとして用いられる。搾油後の綿実粕は精製して主に飼料や肥料として用いられる。

(3) 生理学的及び生態学的特性

イ 基本的特性

ワタは種子繁殖する多年生のアオイ科作物で、草丈は90cm~120cmに伸び、15~20節を有し、各節に葉と2芽をつけ、発育枝と結果枝を生じる。尚、多年生となるのは基本的に熱帯地方のみで、日本では一年生である。

ロ 生息又は生育可能な環境の条件

ワタは平均気温25°Cを最適とし、20~28°Cに適する。降雨量は年1,000~1,500mmが適しており、生育期には相当の降雨を必要とする。しかし開花期以降の多雨は落花・落さくを増加させる。また少雨では繰綿歩合が低下する。北米のワタ作地帯は北緯37~39°であり、北半球では一般に北緯43°が北限で、ヨーロッパでは42°、中央アジアでは44.3°まで分布している。日本では奥羽南端(37.5°)までとされる。土壌は排水良好な砂質壤土に適し、アルカリ土壌に強く酸性を嫌う。また相当塩濃度の高い干拓地にも生育する。

ハ 繁殖又は増殖の様式

ワタの受粉様式に関しては、他家受粉も可能であることが知られているが、基本的には自家受粉である。ワタの花粉重は比較的重く、粘着性があるため風媒により交雑することは考えにくい。その代わり、花粉はマルハナバチ(*Bombus* sp.)やミツバチ(*Apis mellifera*)によって媒介されることがある。尚我が国においてワタと交雑可能な近縁野生種は知られていない。

ニ 有害物質の生産性

他感物質等の野生動植物等の生息又は生育に影響を及ぼす物質の産生は知られていない。

ホ その他の情報

ワタには、ゴッシポールと呼ばれるテルペノイド物質が含まれており、この生理活性物質は種子を含むあらゆる植物組織の分泌器官に存在する。ゴッシポールは内臓器官や肺に炎症を起こし、実験動物においては呼吸困難、麻痺を起こす毒性物質として知られている。しかし、ゴッシポールは他感物質等の野生動植物等の生息又は生育に影響を及ぼす物質ではなく、野生の哺乳動物が綿実を捕食するという例も報告されていない。尚、我が国において運搬の際にこぼれ落ちたワタが自生化したという報告はされていない。

2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

(1) 供与核酸に関する情報

イ 構成及び構成要素の由来

除草剤グリホサート耐性ワタ (*cp4 epsps*, *Gossypium hirsutum*)(MON88913)(以下本組換えワタとする)の作出に用いられた供与核酸の構成及び構成要素の由来は表 1 に示した通りである。

ロ 構成要素の機能

本組換えワタの作出に用いられた供与核酸の構成要素の機能は表 1 に示した通りである。

目的遺伝子である *cp4 epsps* 遺伝子は除草剤グリホサートに高い耐性を持つ CP4 EPSPS 蛋白質を発現する。グリホサートは、非選択的な除草剤であるラウンドアップの有効成分で、芳香族アミノ酸の生合成経路であるシキミ酸合成経路中の酵素の一つである 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素(EPSPS)(E.C.2.5.1.19)と特異的に結合してその活性を阻害する。そのため植物はグリホサートを処理すると EPSPS が阻害されることにより蛋白質合成に必須の芳香族アミノ酸を合成できなくなり枯れてしまう。*cp4 epsps* 遺伝子によって産生される CP4 EPSPS 蛋白質は、グリホサート存在下でも活性阻害を受けないため、結果として本蛋白質を発現する組換え植物ではシキミ酸合成が正常に機能して生育することができる。

尚、EPSPS は植物や微生物に特有の芳香族アミノ酸を生合成するための生合成経路であるシキミ酸経路を触媒する酵素の一つであり、植物中では葉緑体または色素体に存在する。シキミ酸経路は植物の固定する炭素の 5 分の 1 に関与すると考えられる重要な代謝経路である。本経路は、その第一段階に関与する 3-デオキシ-D-arabino-ヘプツロソン酸-7-リン酸(DAHP)合成酵素によって調節を受けて制御されるが、DAHP からコリスミ酸が生成されるまでの段階では、中間代謝物質や最終生成物によって阻害されたり抑制される可能性が極めて低いことが明らかにされている。このことは EPSPS が本経路における律速酵素ではないことを示唆しており、従って、EPSPS 活性が増大しても、本経路の最終産物である芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられている。実際に、通常の 40 倍の EPSPS を生成する植物細胞において、芳香族アミノ酸が過剰に合成されないことが報告されており、加えて、モンサント社がこれまでに商品化した除草剤ラウンドアップ耐性作物(ダイズ、ナタネ、ワタ、トウモロコシ)の食品/飼料安全性の評価の過程で、それら組換え作物種子中のアミノ酸組成を調べて、芳香族アミノ酸含量に元の非組換え作物との間で相違のないことが確認されている。これらのことは EPSPS が本経路における律速酵素ではないことを支持している。また、EPSPS はホスホエノールピルビン酸塩(PEP)とシキミ酸-3-リン酸塩(S3P)から、EPSP と無機リン酸塩(Pi)を生じる可逆反応を触媒する酵素であり、これらの基質と特異的に反応することが知られている。これら以外に唯一 EPSPS と反応することが知られているのは S3P の類似体であるシキミ酸であるが、その反応性は S3P との反応性の 200 万分の 1 にすぎず、生体内で基質として反応するとは考えられない。

以上のことから、植物 EPSPS 蛋白質と機能的に同一である CP4 EPSPS 蛋白質の植物における発現によって、植物の代謝経路に何らかの影響を及ぼす可能性は極めて低いと判断される。

除草剤グリホサート耐性ワタは、すでに 1445 系統が米国及びオーストラリアで商品化され、ワタ農家に幅広く受け入れられている。しかし、この 1445 系統は、グリホサートを散布できる期間が第 4 葉(節)期までに限られており、必ずしもワタの栽培期間を通じて雑草防除が出来ていた訳ではなかった。そこで、モンサント社は第 2 世代のグリホサート耐性ワタとして本組換えワタを開発した。1445 系統には、FMV プロモーターによって制御された *cp4 epsps* 遺伝子発現カセットが 1 コピー挿入されていたのに対して、本組換えワタには、それぞれ異なるプロモーターによって制御された 2 つの *cp4 epsps* 遺伝子発現カセットが挿入されている。これら 2 つの *cp4 epsps* 遺伝子発現カセットにより、本組換えワタはグリホサートに対する耐性が全体的に高まるが、特に生殖器官において高まり、ワタの栽培期間中に新たに発生して収穫時に問題となる雑草防除を目的とした収穫期により近い時期でのグリホサート散布が可能になる。収穫期の雑草が防除できることにより、ワタ農家が機械で大規模収穫する際に混入する雑草による綿毛(リント)の汚色を防ぐことができ、より品質の高い綿毛が収穫出来る。また、May らの報告によると、米国 9 ヶ所のほ場で、第 3、第 6、第 10 そして第 14 葉期の本組換えワタと 1445 系統にグリホサートを連続して散布した結果、明らかに本組換えワタの収量の方が 1445 系統よりも優れていた。この理由としては、本組換えワタの生殖器官でのグリホサート耐

性能が 1445 系統と比較して高まっており、その結果生育後期(第 4 葉期以降)におけるグリホサート耐性能が高まった為と考えられた。

表 1 発現ベクターPV-GHGT35 の各構成要素

構成要素	由来及び機能
P-FMV/TSF1 により制御される <i>cp4 epsps</i> 遺伝子発現カセット	
P-FMV/TSF1	シロイヌナズナ TSF1 プロモーターにゴマノハグサモザイクウイルス 35S プロモーターのエンハンサー配列を結合させたキメラプロモーター。目的遺伝子の生殖器官及び栄養器官での恒常的発現に関与する。
TSF1	翻訳伸長因子 EF-1 alpha をコードするシロイヌナズナ TSF1 遺伝子のリーダー配列(exon 1)。目的遺伝子の発現を高める。
TSF1	翻訳伸長因子 EF-1 alpha をコードするシロイヌナズナ TSF1 遺伝子のイントロン配列。目的遺伝子の発現を高める。
ctp2	芳香族アミノ酸が合成される葉緑体へ CP4EPSPS 蛋白質を輸送するシロイヌナズナ EPSPS 由来の葉緑体輸送ペプチドをコードする配列。
<i>cp4 epsps</i>	<i>Agrobacterium</i> CP4 菌株由来の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素遺伝子。
E9 3'	エンドウの ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase E9 遺伝子の 3'非翻訳領域。mRNA の転写を終結させ、ポリアダニル化を誘導する。
P-35S/ACT8 により制御される <i>cp4 epsps</i> 遺伝子発現カセット	
P-35S/ACT8	シロイヌナズナ ACT8 プロモーターにカリフラワーモザイクウイルス 35S プロモーターのエンハンサー配列を結合させたキメラプロモーター。目的遺伝子の栄養器官での恒常的発現に関与する。
ACT8	シロイヌナズナの ACT8 遺伝子のリーダー配列。目的遺伝子の発現を高める。
ACT8	シロイヌナズナの ACT8 遺伝子のイントロンと、その近傍のエクソン配列。目的遺伝子の発現を高める。
ctp2	芳香族アミノ酸が合成される葉緑体へ CP4EPSPS 蛋白質を輸送するシロイヌナズナ EPSPS 由来の葉緑体輸送ペプチドをコードする配列。
<i>cp4 epsps</i>	<i>Agrobacterium</i> CP4 菌株由来の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素遺伝子。
E9 3'	エンドウの ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase E9 遺伝子の 3'非翻訳領域。mRNA の転写を終結させ、ポリアダニル化を誘導する。

構成要素	機能及び由来
T-DNA の外骨格構成	
左側境界配列(LB)	Ti プラスミド pTiA6 に由来する左境界配列(25bp)を含む DNA 断片。左側境界配列は、T-DNA が <i>Agrobacterium tumefaciens</i> から植物ゲノムへ伝達される際の終結点である。
Ori-V	広域宿主プラスミド RK2 から単離された複製開始領域であり、 <i>Agrobacterium tumefaciens</i> においてベクターに自律増殖能を付与する。
Rop	<i>E. coli</i> 中でのプラスミドのコピー数の維持の為にプライマータンパク質を抑制するコーディング配列。
ORI-PBR322	pBR322 から単離された複製開始領域であり、 <i>E.coli</i> においてベクターに自律増殖能を付与する。
Aad	Tn7 アデニルトランスフェラーゼ(AAD)をコードする遺伝子であり、スペクチノマイシン或いはストレプトマイシン耐性を付与する。
右側境界配列(RB)	Ti プラスミド pTiT37 に由来する、ノパリン型 T-DNA の右境界配列(25bp)を含む DNA 断片。右側境界配列は、T-DNA が <i>Agrobacterium tumefaciens</i> から植物ゲノムへの T-DNA の伝達の際、伝達の開始点として利用される。

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

本組換えワタの作出に用いられたプラスミド・ベクターは、pBR322 に由来する。pBR322 は *E.coli* 由来の合成プラスミドである。

ロ 特性

プラスミド・ベクターpBR322 は、大腸菌での構築ベクターの選抜マーカーとしてテトラサイクリン、アンピシリン耐性、DNA 複製開始点 *ori* 配列を持つ 2 本鎖環状 DNA である。

(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法

イ 宿主内に移入された核酸全体の構成

宿主内に移入された本プラスミド・ベクターの構成要素については表 1 に示した。

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

プラスミド・ベクターPV-GHGT35 中の T-DNA 領域をアグロバクテリウム法により従来ワタ品種 Coker 312 へ導入した。

ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

本組換えワタの開発は 1998 年から始まった。アグロバクテリウム法によりプラスミド・ベクターPV-GHGT35 中の T-DNA 領域を Coker 312 の組織切片に導入した後、グリホサートを含む培地上で形質転換カルスを選抜して再生個体を得た。この時にアグロバクテリウムの残存が無いことも確認している。得られた再生個体について挿入遺伝子や CP4 EPSPS 蛋白質の発現量の解析により更に選抜を進め、人工気象室、温室試験を経て、野外圃場での実際のグリホサート耐性及び農業形質などから総合的に判断して本組換えワタが選抜された。

(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

サザンブロット分析による挿入遺伝子の解析の結果、本遺伝子組み換えワタのゲノム中 1 ヶ所に 1 コピーの T-DNA 領域が組み込まれていることが確認された。また、T-DNA 領域以外の外側骨格領域は挿入されておらず、T-DNA 領域内の 2 つの *cp4 epsps* 遺伝子発現カセットも完全な状態で挿入されていた。更に挿入遺伝子は安定して後代に遺伝していることが複数世代におけるサザンブロット分析によって示された。

更に、本遺伝子組み換えワタの若葉及び種子中での CP4 EPSPS 蛋白質の発現量を分析した。その結果、若葉では平均して $170 \mu\text{g/g}$ fwt 及び $970 \mu\text{g/g}$ dwt であった。また、種子中では $310 \mu\text{g/g}$ fwt 及び $340 \mu\text{g/g}$ dwt であった。尚、CP4 EPSPS 蛋白質の発現の安定性に関しては、各世代での除草剤グリホサートに対する耐性能により評価している。

(5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

サザンブロットによる特異的な検出、識別が可能であり、その検出感度については、

約 10 μ g のゲノミック DNA を用いれば検出可能である。尚、PCR による検出・同定方法に関しては、輸入を目的とした使用等の為の申請の際に提出する。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

イ *cp4 epsps* 遺伝子によってコードされる CP4 EPSPS 蛋白質は本組換えワタの全組織中で恒常的に発現している。

ロ モンサント社は 2002 年に米国の 14 箇所の圃場において各 4 反復で、本組換えワタ及び対照の非遺伝子組み換えワタについて圃場試験を行った。圃場試験を行うにあたっては、①形態及び生育の特性 ⑤種子の生産性、休眠性及び発芽率、⑥交雑性、⑦有害物質の産生性について評価を行った。

① 形態及び生育の特性

24 項目(苗立ち数、生育期の幹長、生育期の草勢、50%の個体で開花が認められるまでの播種後日数、50%の個体で主幹のさくの開じょが認められるまでの播種後日数、収穫期における綿実収量、収穫期における幹長、収穫期における節数、収穫期における節間長、収穫期における総さく数、収穫期における第 1 さくの形態、収穫期における第 2 さくの形態、収穫期における正常なさくの総数、収穫期における異常なさくの割合、それぞれの節間における第 1 さくと第 2 さくの割合、綿実の重量、さく中の綿実数、さく中における成熟種子の数、さく中における未成熟種子の数、さくの大きさ、繊維の均整度、繊維の引っ張り強度、繊維を束にした場合の強度、繊維の長さ)について本組換えワタ及び対照の非組換えワタ間の形態特性及び生育の差異を調査した。

その中で、苗立ち数、幹長、草勢、50%の個体で開花が認められるまでの播種後日数、50%の個体で主幹のさくの開じょが認められるまでの播種後日数及び綿実収量の 11 項目について測定を行い、得られた結果について統計処理を行った。

その結果、50%の個体で開花が認められるまでの播種後日数について、対照の非組換えワタとの間で統計学的有意差が認められたが($p < 0.05$)、それ以外の項目については、差異は認められなかった。尚、統計学的有意差の認められた 50%の個体で開花が認められるまでの播種後日数の差は、本組換えワタと対照の非組換えワタの間で平均して僅か一日 (64 日間と 63 日間)であった。

② 生育初期における低温又は高温耐性

生育初期における低温耐性試験は行っていないが、隔離ほ場試験において行う予定である。

③ 成体の越冬性又は越夏性

成体の越冬性試験は行っていないが、隔離ほ場試験において行う予定である。

④ 花粉の稔性及び直径

花粉の稔性及び直径に関する試験は米国では行っていないが、隔離ほ場試験において花粉の稔性及び形状に関する試験を行う予定である。

⑤ 種子の生産性、休眠性及び発芽率

種子の生産性については、①の形態及び生育の特性で、綿実の重量、さく中の綿実数、さく中における成熟種子の数、さく中における未成熟種子の数について本組換えワタ及と対照の非組換えワタとの差異を調査している。その結果、これらの項目について差異は認められなかった。

休眠性及び発芽率については、2002年に米国のアラバマ州(AL)、カリフォルニア州(CA)及びジョージア州(GA)の3ヶ所の圃場試験において収穫された本組換えワタ、対照の非組換えワタ及び参考として加えた6つの従来品種の種子を用い、10~40℃の異なる温度条件下での種子発芽率を調査することによって評価した。

その結果、いくつかの温度条件下では、本組換えワタと対照の非組換えワタとの間で統計的有意差($p \leq 0.05$)が認められたが、それらは参考として加えられた6つの従来品種の値のほぼ範囲内であった。一方、それぞれの温度条件下で、本組換えワタ、対照の非組換えワタ及び参考として加えた6つの従来品種の種子は、いずれも発芽、死滅あるいは吸水膨潤状態(Viable Firm Swollen)であり、休眠状態(Viable Hard)の種子は認められなかった。

また、本試験の最低設定温度である10℃条件下において、いずれの種子も死滅あるいは吸水膨潤状態で発芽及び休眠状態のものが認められなかった。

⑥ 交雑性

わが国では本組換えワタが属する四倍体栽培ワタ *Gossypium hirsutum* と交雑可能な *Gossypium* に属する近縁野生種は存在しない。従って交雑性については評価を行わなかった。

⑦ 有害物質の産生性

本組換えワタからの有害物質の生産性については、参考として高性能液体クロマトグラフィー(HPLC)及びガスクロマトグラフィー(GC)を用いて、本組換えワタと対照の非組換えワタからの抽出液及び揮発成分の溶出パターンを比較した。

本組換えワタと対照の非組換えワタの地上部そして根からの抽出液中のフェノール酸とその他の成分を高性能液体クロマトグラフィー(HPLC)で比較し、また植物体からの揮発成分をガスクロマトグラフィー(GC)により比較した。

その結果、本組換えワタと対照の非組換えワタの地上部の抽出液における溶出パターン、及び根からの浸出液における溶出パターンは、ほぼ一致した。更に揮発成分における溶出パターンもほぼ一致した。

3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

(1) 使用等の内容

隔離ほ場における栽培、保管、運搬、廃棄及びこれに付随する行為

(2) 使用等の方法

所在地：茨城県稲敷郡河内町生板 4717

名称：日本モンサント隔離ほ場

使用期間：平成 16 年 5 月から平成 16 年 12 月まで

1 隔離ほ場の施設

- (1) 7836 m²の隔離ほ場の外周を囲むように高さが約 1.5m のフェンスを設置している。
- (2) 隔離ほ場であること、部外者は立入禁止であること明示した標識を掲げている。尚、責任者の名前は 4 月までに明示する予定である。
- (3) 隔離ほ場で使用した機械又は器具、隔離ほ場で作業に従事した者の靴等に付着した遺伝子組換え農作物を洗浄するための洗い場、隔離ほ場で使用した靴等を保管する靴箱等を設置している。
- (4) 3196 m²の隔離畑を囲むように防風網設置している。また、本組換えワタの開花期間中は防虫網を張って栽培する。

2 隔離ほ場の作業要領

- (1) 遺伝子組換え農作物及び比較対照の農作物以外の植物が認められた場合は、ただちに除草剤処理、鋤き込み或いは抜き取って焼却炉で焼却することにより不活化させる。
- (2) 遺伝子組換え農作物の栽培が終了した後、当該遺伝子組換え農作物を隔離ほ場内に鋤き込むか、焼却炉で焼却することにより不活化する。
- (3) 遺伝子組換え農作物を隔離ほ場の外に運搬し又は保管する場合は、密閉された容器に遺伝子組換え農作物を入れる。
- (4) 隔離ほ場で使用した機械又は器具、隔離ほ場で作業に従事した者の靴等は、隔離ほ場内に設置した洗い場で洗浄する。
- (5) 隔離ほ場内の設備については随時点検、整備する。
- (6) 隔離ほ場内で栽培した遺伝子組換え農作物以外の植物であって当該遺伝子組換え農作物との区別が付きにくいものは、ただちに除草剤処理、鋤き込み或いは抜き取って焼却炉で焼却することにより不活化させる。
- (7) (1)から(6)に掲げる事項を使用等をするものに遵守させること
- (8) 生物多様性影響のおそれがあると認められたときに添付書類の緊急措置計画書に定められた生物多様性影響を効果的に防止するための措置を確実に講ずること

(3) 生物多様性影響が生じるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置

申請書に添付した緊急措置計画書を参照

- (4) 実験室等での使用又は第一種使用等が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果

本組換えワタと対照の非組換えワタの病虫害感受性に関して、14種の害虫及び4種の病害の発生に着目して評価した。その結果、ジョージア州ペミスコットの圃場(TF)で、播種後4週間の本組換えワタの *Beet armyworm* による食害率が非組換えワタと比べて著しく高かったが、それ以外の害虫及び病徴の発生率には相違は大きな相違は認められなかった。ジョージア州ペミスコットの圃場(TF)での *Beet armyworm* による食害率の違いについては、播種後8週間と12週間ではあまり認められず、*Beet armyworm* による食害率を観察したその他の2箇所の圃場においても、食害率の違いは認められなかった。

- (5) 国外における使用等に関する情報

米国においてこれまで2001～2003年の間に延べ141ヶ所の圃場試験が行われているが、非組換えワタと比較して生物多様性影響を生じるおそれがあるような相違は報告されていない。

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

1 競合における優位性

- (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

我が国において運搬中にこぼれ落ちたワタが自生化したという報告はされていない。また、アジア綿である *G. arboreum* に関しては、文禄年間(1592～1595)に我が国に伝えられてから明治15～20年頃までと、第二次世界大戦中から戦後までの間で盛んに栽培された経験がある。

本組換えワタは非選択性除草剤グリホサートに高い耐性を持つが、グリホサートを散布されることが想定しにくい自然条件下においてグリホサート耐性であることが競合における優位性を高めるとは考えられない。

競合における優位性に関わる諸形質について、第一、2-(6)の①形態及び生育の特性、⑤種子の生産性、休眠性及び発芽率、そして第一、3-(5)害虫/病原菌に対する感受性に記載したように比較検討したが、50%の個体で開花が認められるまでの播種後日数、10～40℃の異なる温度条件下での種子発芽特性、播種後4週間の本組換えワタの *Beet armyworm* による食害率を除く全ての項目で対照の非組換えワタとの間に差異は認められなかった。尚、統計学的有意差の認められた50%の個体で開花が認められるまでの播種後日数の差は、本組換えワタと対照の非組換えワタの間で平均して僅か一日(64日間と63日間)であった。又異なる温度条件下(10～40℃)での種子発芽特性における試験結果については、参考として行った従来品種の値のほぼ範囲内であった。更に播種後4週間の本組換えワタの *Beet armyworm* による食害率については、播種後8週間と12週間ではあまり認められなくなったことと、*Beet armyworm* による食害率を観察したその他の圃場では、食害率の違いは認められなかった。よって本組換えワタと対象の非組換えワタとの間で、競合における優位性に関して意味のある差異はないと判断された。

以上のことから本組換えワタは、我が国の自然条件下で生育した場合の特性は明らかにされていないが、非組換えワタとの間に大きな相違はないと考えられ、限定された環

境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場で使用する範囲内では、競合における優位性について影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

(3) 影響の生じやすさの評価

(4) 生物多様性影響が生じるおそれの有無等の判断

以上の結果から、本組換えワタは、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬、廃棄及びこれに付随する行為の範囲内では、競合における優位性に関して、生物多様性影響を生じるおそれがないと判断された。

2 有害物質の産生性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

これまでワタが生物多様性に影響を生じさせるような有害物質を産生させるといった報告はされていない。

本組換えワタは非選択性除草剤グリホサートに高い耐性を持つ CP4EPSPS 蛋白質を産生する性質を有しているが、本蛋白質は有害物質に該当しない。

本組換えワタと対象の非組換えワタとの間で、有害物質の産生性に関わる試験項目に関して、第一、2-(6)、二に記載したように参考として GC 及び HPLC により比較検討した。その結果それぞれの溶出パターンに差異は認められなかった。

以上のことから本組換えワタは、我が国の自然条件下で生育した場合の特性は明らかにされていないが、非組換えワタとの間に大きな相違はないと考えられ、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場で使用する範囲内では、有害物質の産生性に関して影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

(3) 影響の生じやすさの評価

(4) 生物多様性影響が生じるおそれの有無等の判断

以上の結果から、本組換えワタは、我が国の自然条件下で生育した場合の特性は明ら

かにされていないが、非組換えワタとの間に大きな相違はないと考えられ、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬、廃棄及びこれに付随する行為の範囲内では、有害物質の産生性に関して、生物多様性影響を生じるおそれがないと考えられた。

3 交雑性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

我が国では本組換えワタが属する四倍体栽培ワタ *Gossypium hirsutum* と交雑が可能な *Gossypium* に属する近縁野生種は自生していない。よって、交雑性について、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

(3) 影響の生じやすさの評価

(4) 生物多様性影響が生じるおそれの有無等の判断

以上のことから、本組換えワタは、交雑性に関して、生物多様性影響を生じるおそれがないと判断された。

4 その他の性質

第三 生物多様性影響の総合的評価

本組換えワタと対照の非組換えワタとの間で競合における優位性に関して意味のある差異はないと判断された。以上から、本組換えワタは、我が国の自然条件下で生育した場合の特性は明らかにされていないが、非組換えワタとの間に大きな相違はないと考えられ、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬、廃棄及びこれに付随する行為により、競合における優位性に関して、生物多様性影響を生じるおそれがないと判断された。

本組換えワタと対照の非組換えワタとの間で有害物質産生性に関して意味のある差はないと判断された。以上から、本組換えワタは、我が国の自然条件下で生育した場合の特性は明らかにされていないが、非組換えワタとの間に大きな相違はないと考えられ、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬、廃棄及びこれに付随する行為により、競合における優位性に関して、生物多様性影響を生じるおそれがないと判断された。

我が国では本組換えワタが属する四倍体栽培ワタ *Gossypium hirsutum* と交雑が可能な *Gossypium* に属する近縁野生種は存在しないことから、本組換えワタが交雑性に関して、生物多様性影響を生じるおそれはないと判断された。

以上のことから、本組換えワタは、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬、廃棄及びこれに付随する行為により、我が国の生物多様性に影響が生じるおそれはないと結論された。

緊急措置計画書

平成16年 2月 9日

氏名 日本モンサント株式会社
代表取締役社長 山根 精一郎
住所 東京都中央区銀座4-10-10
銀座山王ビル8階

第一種使用規程の承認を申請している除草剤グリホサート耐性ワタ(*cp4 epsps*、*Gossypium hirsutum*) (MON88913) (以下、本LMOという)の第一種使用等において、生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊社は生物多様性影響のリスク評価を実施する。このリスク評価に基づき、生物多様性に及ぼす影響に応じた管理計画を設定し、こうした危険性を軽減する方法の決定への協力などを必要に応じて行う。さらに、特定された危険性の重大性や起こりうる確率から判断して、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合は、当該影響を効果的に防止するため、特定された問題に応じ、以下のことを行う。尚、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合とは、本LMOに関して、科学的に我が国の生物多様性に影響を生ずることが立証された場合のことである。

1 第一種使用等における緊急措置を講ずるための実施体制及び責任者は以下に示す通りである。

平成16年2月現在 【個人名・所属は個人情報につき非公開】

社内委員	

* : 管理責任者

2 第一種使用等の状況の把握の方法

第一種使用等の状況は、日本モンサント河内研究農場実験従事者から得られた情報により

把握する。

- 3 第一種使用等をしている者に緊急措置を講ずる必要があること及び緊急措置の内容を周知するための方法

実験従事者に直接口頭で伝える。

- 4 遺伝子組換え生物等を不活化し又は拡散防止措置を執ってその使用等を継続するための具体的な措置の内容

具体的措置として、本LMOを隔離ほ場内で鋤き込むか抜き取って焼却するなどして隔離ほ場外への本LMOの放出が行われないようにすること、また隔離ほ場周辺をモニタリングすることにより本LMOが隔離ほ場外へ放出されていないことを確認すること等、必要な措置を実行する。

- 5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊社はそのことを直ちに農林水産省及び環境省に報告する。